

氏 名	ます 榎 とみ なお や
学位の種類	博 士 (農 学)
学位記番号	論 農 博 第 2526 号
学位授与の日付	平 成 16 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Evaluation of endocrine active chemicals on endocrine/reproductive systems following transplacental and lactational exposure in rats. (内分泌作用性化学物質の経胎盤・経乳曝露によるラット内分泌・生殖系への影響を評価する実験系の開発に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 今 井 裕 教 授 宮 本 元 教 授 矢 野 秀 雄

論 文 内 容 の 要 旨

脊椎動物の発育初期には、ステロイドホルモンの作用により発育・性分化が進行する。また、この時期の動物は成熟期のそれと比較して恒常性機構が未発達であることから、ホルモン様作用あるいは抗ホルモン作用を有する外因性化学物質への感受性が高い。そのためラット等の実験動物を用いて、内分泌攪乱作用の疑われる化学物質の発育期曝露による影響を評価する試みが盛んに行われているが、飼料そのものに含有する内分泌作動性の化学物質の混在、実験動物における化学物質の摂取経路や曝露経路がヒトと必ずしも一致しないなどの理由によって、実験動物で得られた知見がヒトに外挿できるデータとして利用されていない。本研究では、代表的ないくつかの内分泌作動性化学物質について、ヒトの周産期曝露の影響を予知することが可能な実験系の確立を試みた。

はじめに、エストロゲン様作用をするエチニルエストラジオール (EE) を用いて、周産期曝露の影響を検討するとともに、飼料中に混在する植物エストロゲン量が試験成績に及ぼす影響を評価した。ラットの脳の性分化が起こる胎齢15日から出生後10日まで、飼料中に混じたEEを母親に摂取させた結果、産子に春期発動期の変動 (雄では遅延、雌では早期化)、雌の性周期の異常、性成熟後の雌の内分泌・生殖系器官の形態学的変化 (多卵胞嚢胞、子宮内膜上皮の肥大、乳腺の腺房増生など) が誘発された。これらの異常は、植物エストロゲン含量の高い基礎飼料を用いた際に強く発現した。これらの結果から、周産期に一時的にホルモン様作用を有する物質の曝露を受けることにより、生涯にわたって持続する不可逆的な異常が内分泌・生殖系に誘起されることが示された。また、飼料中の植物エストロゲン含量の違いが試験結果に影響を及ぼすことを明らかにした。

次に、飼料中のエストロゲンの影響を排除した同様の実験系において、内分泌攪乱作用の疑われるメトキシクロール (MXC)、フタル酸ジイソノニル (DINP)、ゲニスチン (GEN) の評価を行った。MXCは母動物への毒性用量である1,200ppmにおいて、産子の春期発動期・性周期・雌の生殖器にEEと同様の異常を誘発した。DINPは、母動物への毒性用量である20,000ppmにおいて、精巣の組織学的異常 (セルトリ細胞の空胞化、減数分裂中の精母細胞の変性) を誘発した。GENは、産子の内分泌・生殖系に異常を起こさなかった。以上の結果から、MXCおよびDINPは、毒性用量においては産子の内分泌・生殖系に異常を誘発するものの、無毒性量においては何ら影響を与えないことが示された。

本研究では、上位中枢の発育時期である周産期に曝露期間を設定したが、これまでのところ視床下部の性的二型核の体積など、脳神経中枢への影響を評価する指標に変化は認められなかった。そこで、体内のホルモン環境の異常をより高感度に検出できる指標として、下垂体ホルモン (LH, FSH, PRL) 産生細胞への内分泌作動性化学物質の影響を評価した。その結果、これまで全く異常の検出されていなかったMXCの240ppm区において、性成熟後に下垂体前葉細胞中のPRL産生細胞の割合が増加していることを確認した。これまで、MXCを数週間にわたってラットに経口投与することにより下垂体のPRL濃度の上昇が報告されているが、本研究の結果は、母動物の周産期へのMXCの一時的な曝露により、産子の下垂体に影響を与えたことを示すものであり、MXCへの感受性が周産期に極めて高くなることを明確に示したものである。一方、

他の化学物質では本指標を用いても影響は検出されず、発育期曝露による生体への影響は比較的小さいことが明らかとなった。

以上、本論文においては、実験動物を用いて、ヒトの化学物質摂取経路と同様の曝露経路（母動物への混餌投与による産子への経胎盤・経乳曝露）によって、内分泌作動性化学物質の周産期曝露の影響を評価する実験系を開発することができた。

論文審査の結果の要旨

内分泌ホルモンに類似の作用を示し、子孫を残すために不可欠な生殖機能に対して深刻な影響を及ぼす物質の存在が知られるようになり、内分泌攪乱物質と呼ばれている。しかし、その作用時期や作用機序、あるいはその毒性量については未だに解明されていない点が多い。さらに、様々な実験モデルを用いた内分泌攪乱物質の評価は、個々の研究報告で必ずしも一致しておらず、評価結果の矛盾を是正しつつ、ヒトに外挿しうる評価系の確立が求められている。本研究では、ラットを用いて、従来の実験系の問題点を再検討するとともに、ヒトに外挿可能な評価系の確立を試みた。本研究によって得られた成果は、以下のように要約できる。

1. エストロゲン様の作用を示すエチニルエストラジオール（EE）を用いて、ラット脳の性分化期と考えられている胎齢15日目から、出生後10日目までEEを経口的に曝露したときの生殖機能への影響について検討した。EEは春期発動の開始時期に対して、雄では遅延、雌では早期化させるとともに、雌における性周期の異常、内分泌・生殖器官の形態学的異常などを誘発し、胎子期から出生後の発育初期に短時間曝露することによって、内分泌系・生殖系に不可逆的な異常が誘起されることを示した。

2. 実験動物に与える飼料中には、植物性エストロゲンが種々の濃度で含有しており、飼料の種類によってその含有量は一定しない。本実験において、基礎飼料として高濃度の植物性エストロゲンを含む飼料を用いたところ、内分泌攪乱物質としてのEEの効果が増強された。飼料に含まれる植物性エストロゲン量は、内分泌攪乱物質の評価結果を左右する大きな要因となっていることを明らかにした。

3. 植物性エストロゲン含量を低下させた飼料を用いて、メトキシクロール（MXC）、フタル酸ジイソノニル（DINP）、ゲニスチン（GEN）の内分泌攪乱作用について評価した。MXCやDINPは、高濃度では雄・雌とも性周期や生殖器の構造的な異常をもたらすが、無毒性濃度では内分泌系・生殖系への影響は認められなかった。GENについては、産子の内分泌系・生殖系への影響は無視できる程に低いことを示した。

4. 内分泌攪乱作用を有する化学物質を高感度で検出する系として、脳下垂体視床下部の下垂体ホルモン分泌細胞への影響を見る新しい評価系を開発した。この評価系を用いて、内分泌攪乱作用の毒性量としてこれまで認識されていなかったMXCの240ppm量において、下垂体前葉細胞のプロラクチン産生細胞およびプロラクチン分泌の増加といった、内分泌攪乱作用に類似した異常が検出され、MXCへの感受性が周産期に極めて高くなることを明らかにした。

以上のように、本論文は、多様な化学物質から内分泌攪乱物質を同定し、ヒトに外挿するための高感度な評価系を提案したものであり、生殖内分泌学、動物毒性学および実験動物学の発展に寄与するところが多い。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成16年2月13日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。